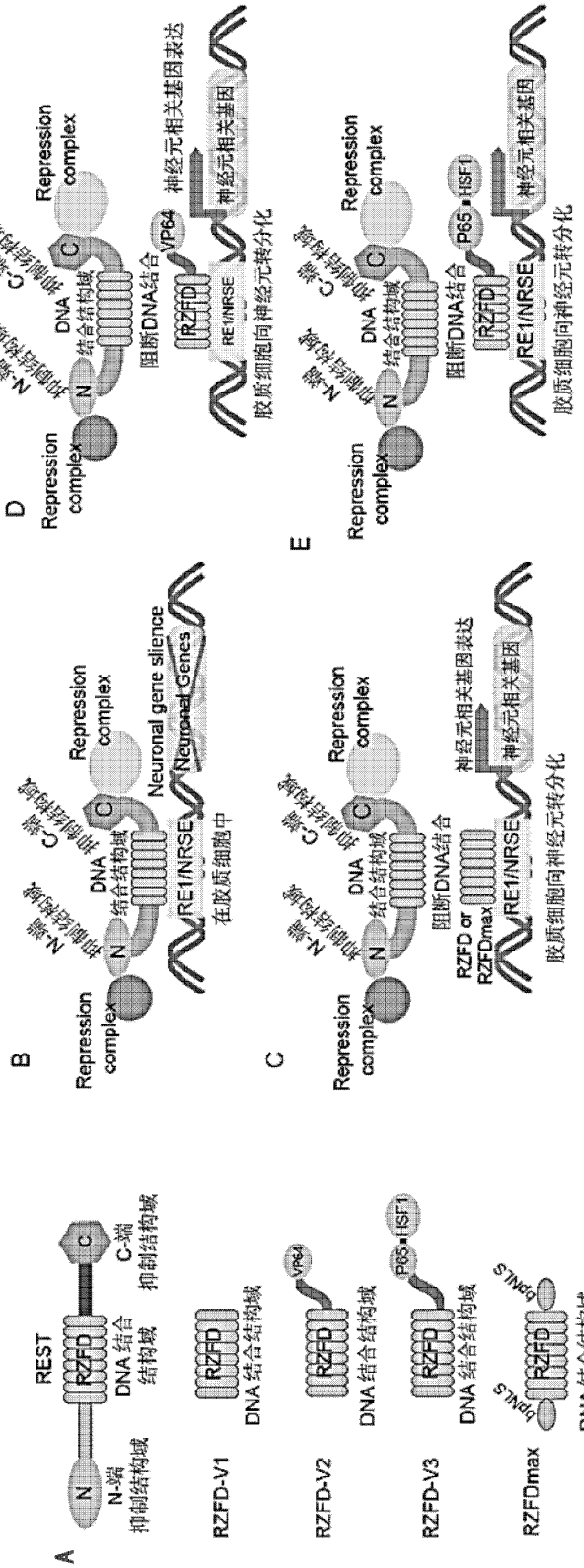

A
REST
N
N-端
抑制结构域
RZFD
DNA 结合
结构域
C
C-端
抑制结构域
RZFD-V1
DNA 结合结构域
RZFD-V2
VP64
DNA 结合结构域
RZFD-V3
P65
HSF1
DNA 结合结构域
RZFDmax
bpNLS
DNA 结合结构域
B
Repression complex
N-端
抑制结构域
N
DNA
结合结构域
C
C-端
抑制结构域
Repression complex
RE1/NRSE
Neuronal gene slience
Neuronal Genes
在胶质细胞中
C
Repression complex
N-端
抑制结构域
N
DNA
结合结构域
C
C-端
抑制结构域
Repression complex
阻断DNA结合
RZFD or
RZFDmax
RE1/NRSE
神经元相关基因表达
神经元相关基因
胶质细胞向神经元转分化
D
Repression complex
N-端
抑制结构域
N
DNA
结合结构域
C
C-端
抑制结构域
Repression complex
阻断DNA结合
VP64
RZFD
RE1/NRSE
神经元相关基因表达
神经元相关基因
胶质细胞向神经元转分化
E
Repression complex
N-端
抑制结构域
N
DNA
结合结构域
C
C-端
抑制结构域
Repression complex
阻断DNA结合
P65
HSF1
RZFD
RE1/NRSE
神经元相关基因
胶质细胞向神经元转分化

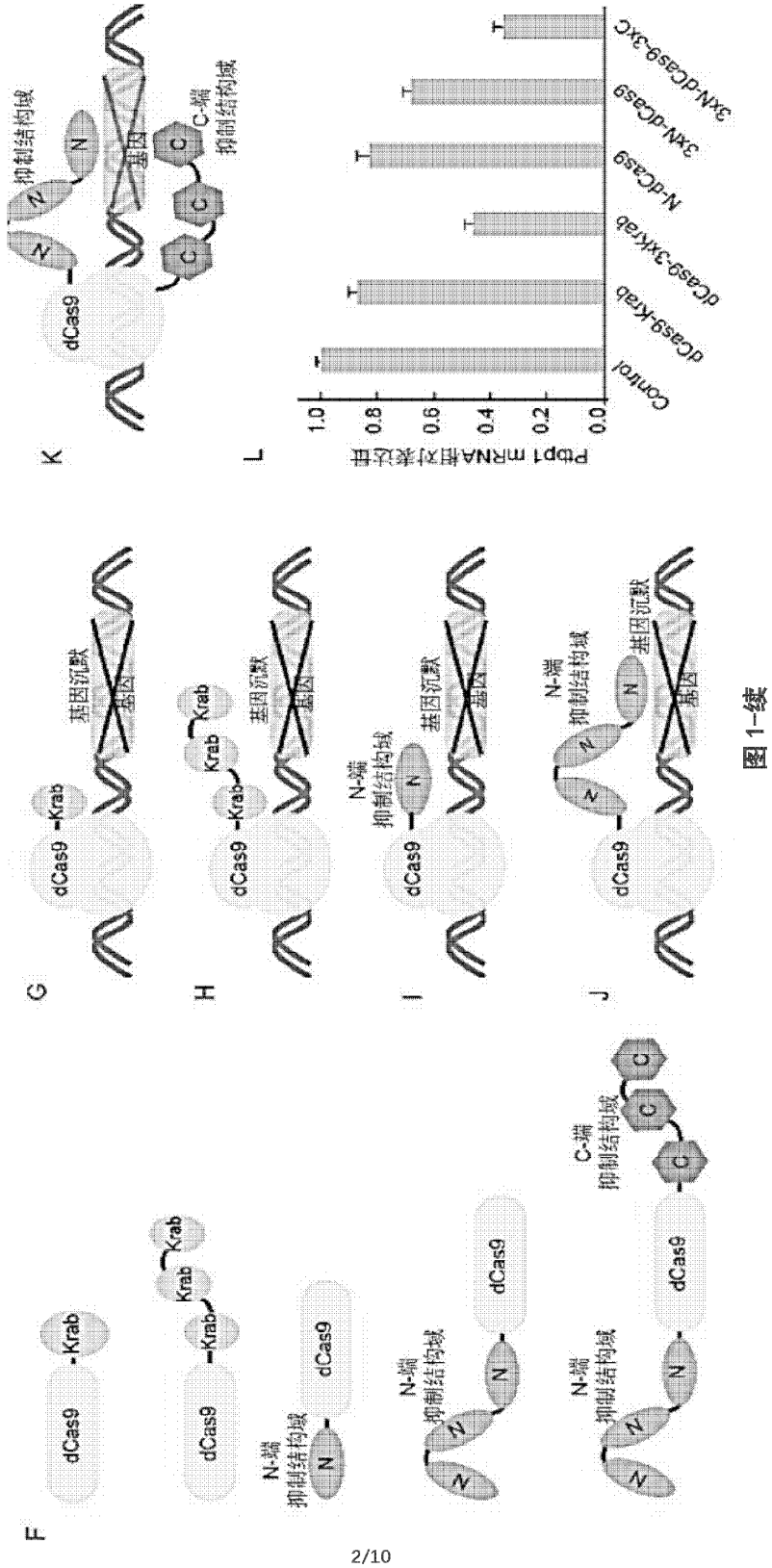

F
dCas9
Krab
N-端
抑制结构域
C-端
抑制结构域
G
H
I
J
基因沉默
基因
K
L
Tubp1 mRNA相对表达量
Control
dCas9-Krab
dCas9-3xKrab
N-dCas9
3xN-dCas9
3xN-dCas9-3xC

图 1-续

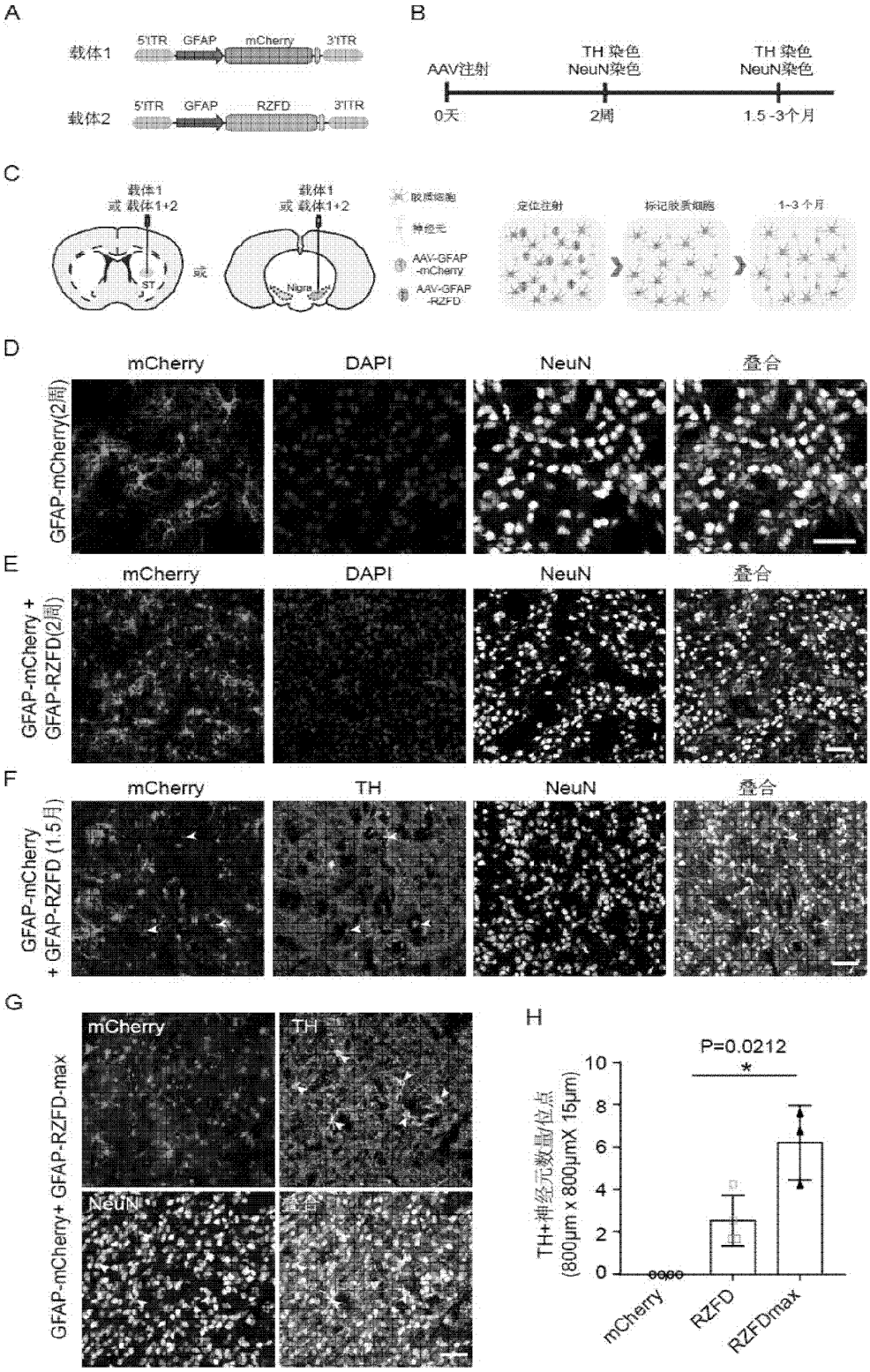

A
载体1
5'ITR
GFAP
mCherry
3'ITR
载体2
5'ITR
GFAP
RZFD
3'ITR
B
AAV注射
TH 染色
NeuN染色
TH 染色
NeuN染色
0天
2周
1.5 -3个月
C
载体1
或 载体1+2
或
ST
载体1
或 载体1+2
Nigra
胶质细胞
神经元
AAV-GFAP
-mCherry
AAV-GFAP
-RZFD
定位注射
标记胶质细胞
1~3 个月
D
mCherry
DAPI
NeuN
叠合
GFAP-mCherry(2周)
E
mCherry
DAPI
NeuN
叠合
GFAP-mCherry +
GFAP-RZFD(2周)
F
mCherry
TH
NeuN
叠合
GFAP-mCherry
+ GFAP-RZFD (1.5月)
G
mCherry
TH
NeuN
叠合
GFAP-mCherry+ GFAP-RZFD-max
H
P=0.0212
*
TH+神经元数量/位点
(800μm x 800μmX 15μm)
10
8
6
4
2
0
mCherry
RZFD
RZFDmax

**图 2**

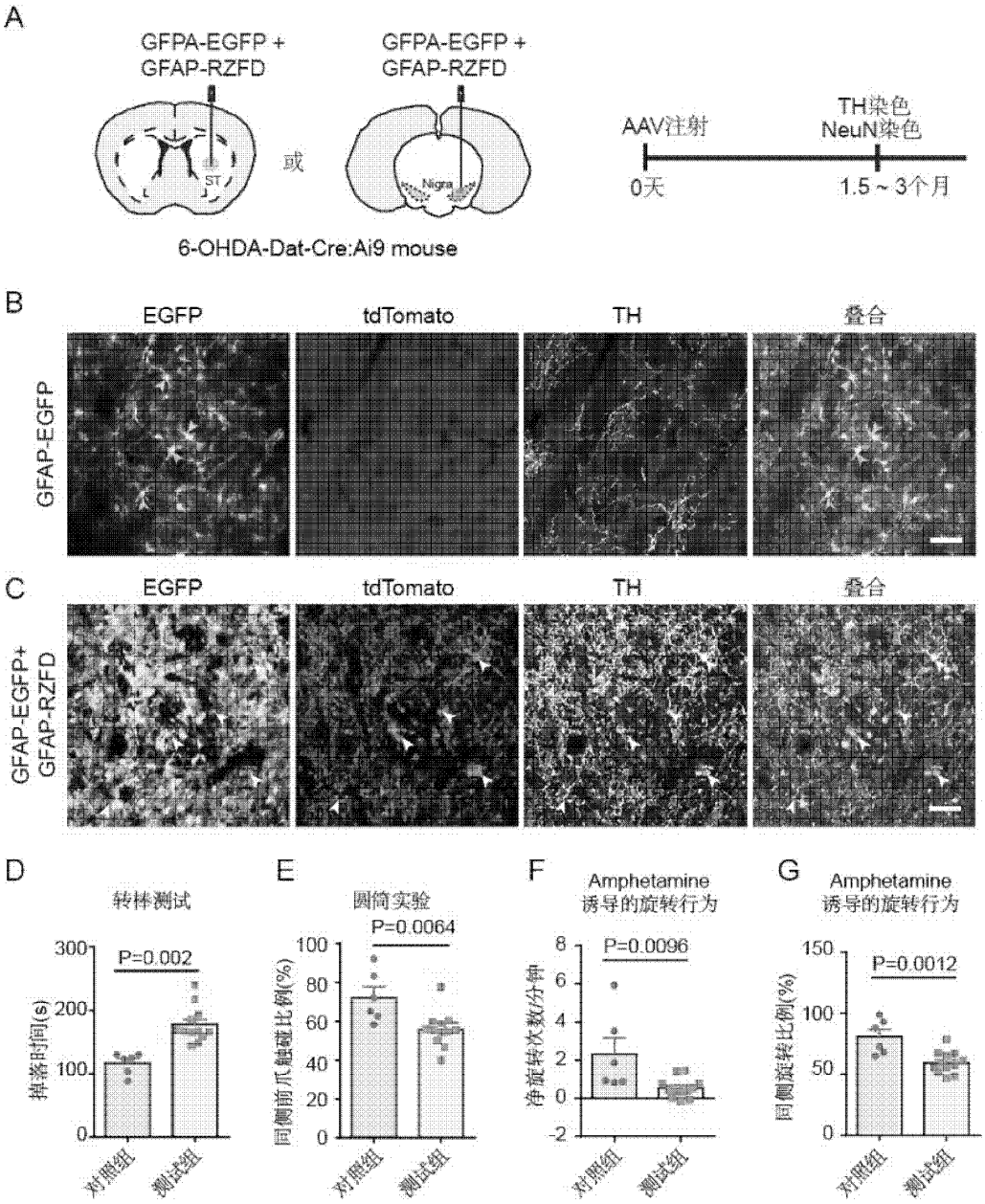

A
GFPA-EGFP +
GFAP-RZFD
GFPA-EGFP +
GFAP-RZFD
或
ST
Nigra
AAV注射
TH染色
NeuN染色
0天
1.5 ~ 3个月
6-OHDA-Dat-Cre:Ai9 mouse
B
EGFP
tdTomato
TH
叠合
GFAP-EGFP
C
EGFP
tdTomato
TH
叠合
GFAP-EGFP+
GFAP-RZFD
D
转棒测试
P=0.002
掉落时间(s)
300
200
100
0
对照组
测试组
E
圆筒实验
P=0.0064
同侧前爪触碰比例(%)
100
80
60
40
20
0
对照组
测试组
F
Amphetamine
诱导的旋转行为
P=0.0096
净旋转次数/分钟
8
6
4
2
0
-2
对照组
测试组
G
Amphetamine
诱导的旋转行为
P=0.0012
同侧旋转比例(%)
150
100
50
0
对照组
测试组

**图 3**

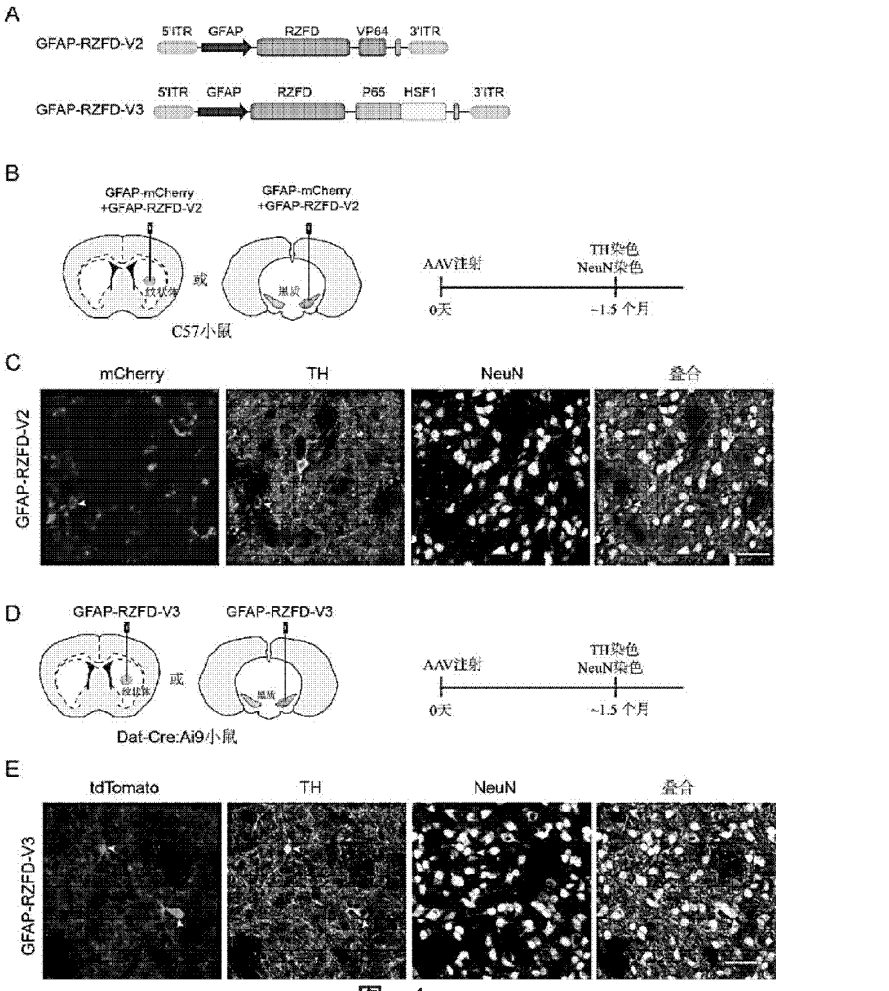

A
GFAP-RZFD-V2
5'ITR GFAP RZFD VP64 3'ITR
GFAP-RZFD-V3
5'ITR GFAP RZFD P65 HSF1 3'ITR
B
GFAP-mCherry +GFAP-RZFD-V2
GFAP-mCherry +GFAP-RZFD-V2
或
C57小鼠
AAV注射
TH染色 NeuN染色
0天
~1.5 个月
C
mCherry
TH
NeuN
叠合
GFAP-RZFD-V2
D
GFAP-RZFD-V3
GFAP-RZFD-V3
或
Dat-Cre:Ai9小鼠
AAV注射
TH染色 NeuN染色
0天
~1.5 个月
E
tdTomato
TH
NeuN
叠合
GFAP-RZFD-V3

图 4

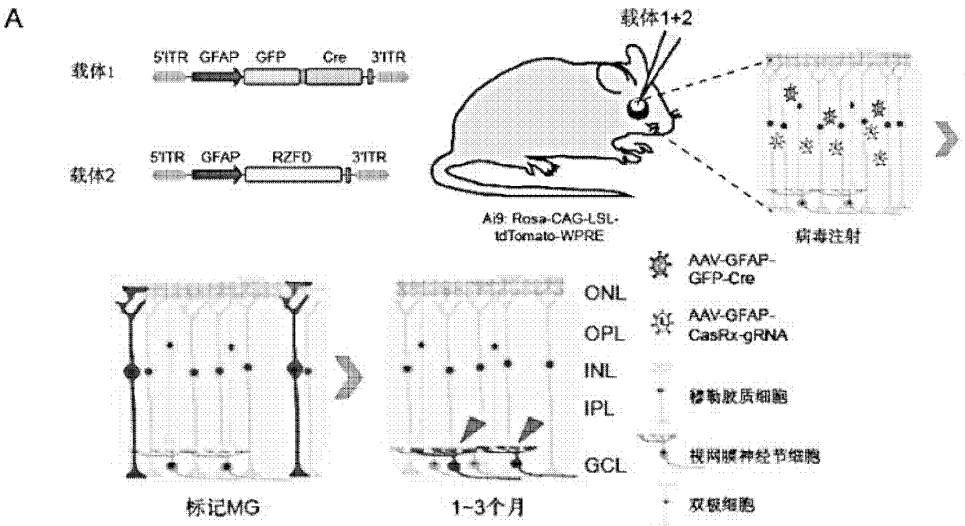

A
载体1+2
载体1
5'ITR GFAP GFP Cre 3'ITR
载体2
5'ITR GFAP RZFD 3'ITR
Ai9: Rosa-CAG-LSL-tdTomato-WPRE
病毒注射
AAV-GFAP-GFP-Cre
AAV-GFAP-CasRx-gRNA
ONL
OPL
INL
IPL
GCL
穆勒胶质细胞
视网膜神经节细胞
双极细胞
标记MG
1~3个月

图 5

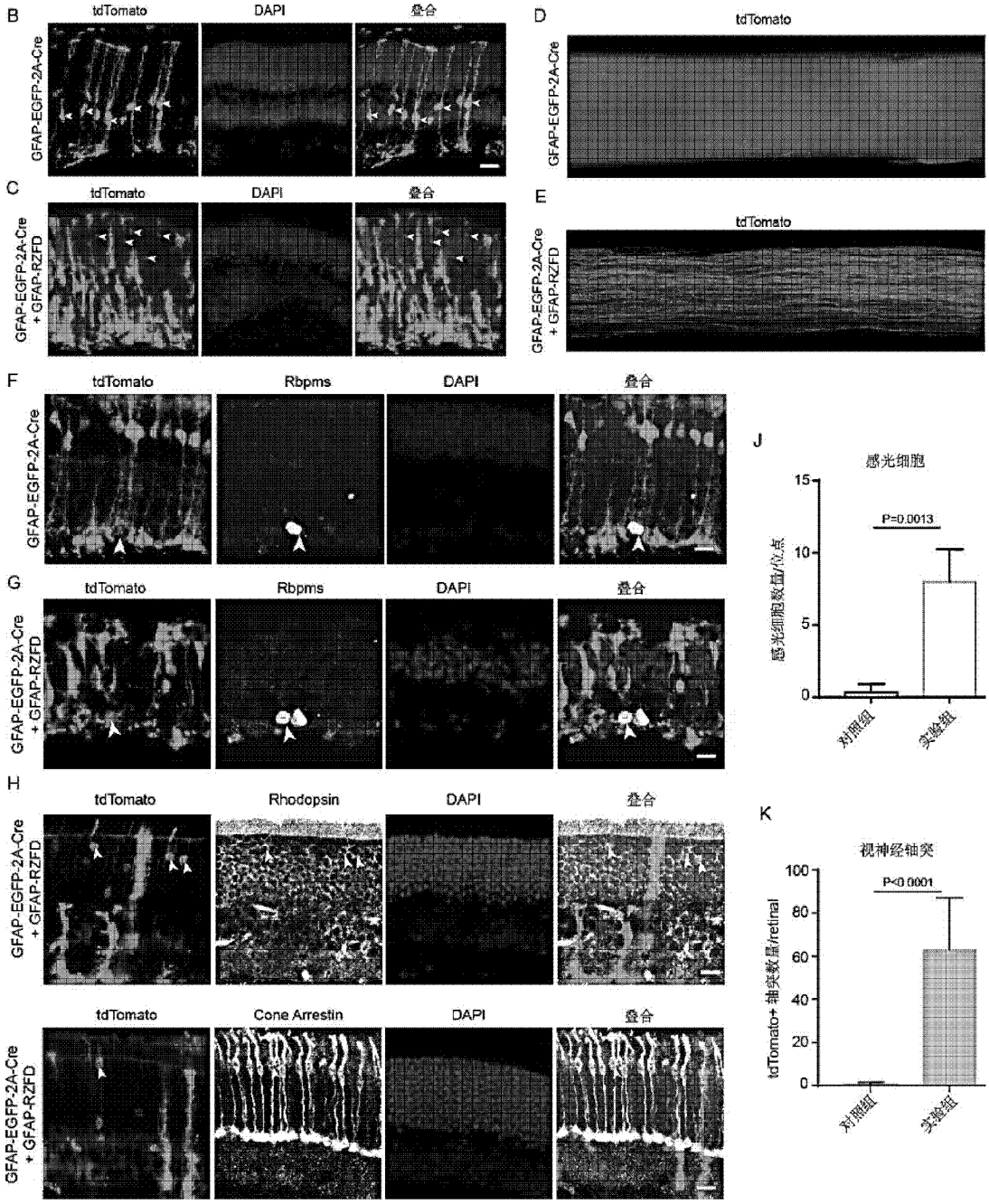

B
tdTomato
DAPI
叠合
GFAP-EGFP-2A-Cre
C
GFAP-EGFP-2A-Cre + GFAP-RZFD
D
E
F
Rbpms
G
H
Rhodopsin
Cone Arrestin
J
感光细胞
P=0.0013
感光细胞数目/位点
对照组
实验组
K
视神经轴突
P<0.0001
tdTomato+ 轴突数目/retinal

图 5（续）

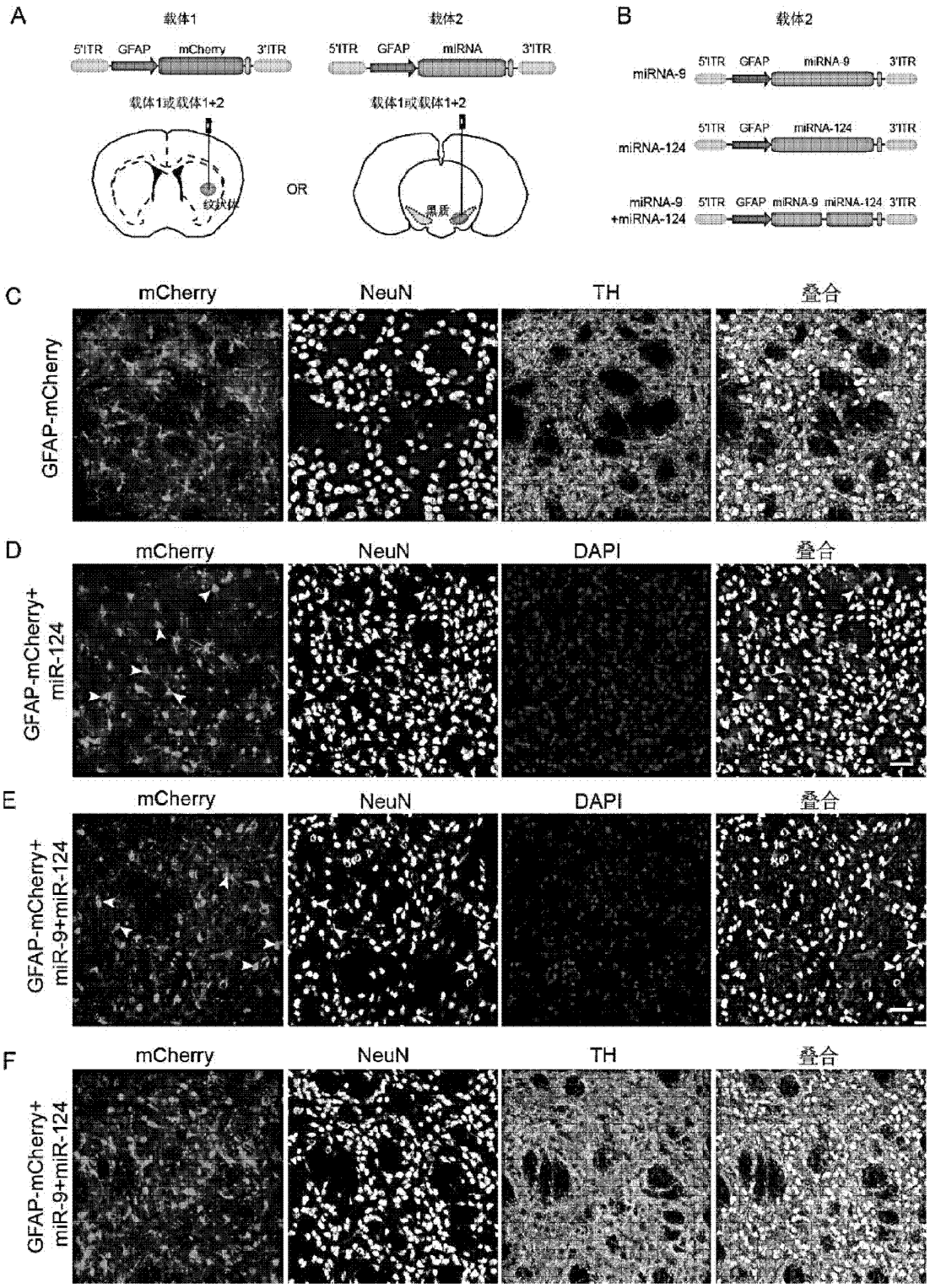

A
载体1
5'ITR GFAP mCherry 3'ITR
载体1或载体1+2
纹状体
OR
载体2
5'ITR GFAP miRNA 3'ITR
载体1或载体1+2
黑质
B
载体2
miRNA-9
5'ITR GFAP miRNA-9 3'ITR
miRNA-124
5'ITR GFAP miRNA-124 3'ITR
miRNA-9 +miRNA-124
5'ITR GFAP miRNA-9 miRNA-124 3'ITR
C
mCherry NeuN TH 叠合
GFAP-mCherry
D
mCherry NeuN DAPI 叠合
GFAP-mCherry+ miR-124
E
mCherry NeuN DAPI 叠合
GFAP-mCherry+ miR-9+miR-124
F
mCherry NeuN TH 叠合
GFAP-mCherry+ miR-9+miR-124

图 6

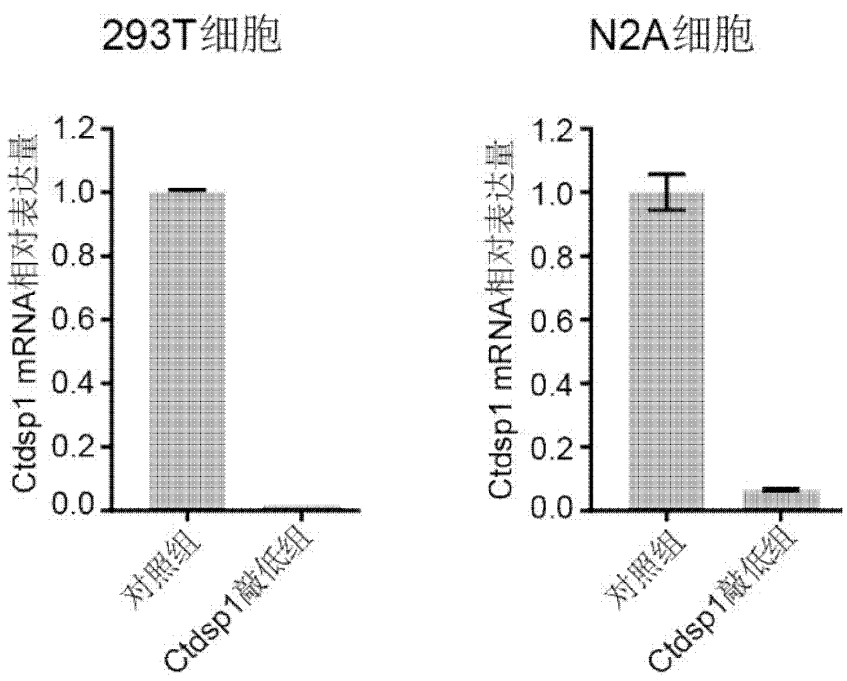

293T细胞
N2A细胞
Ctdsp1 mRNA相对表达量
1.2
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
对照组
Ctdsp1敲低组

图 7

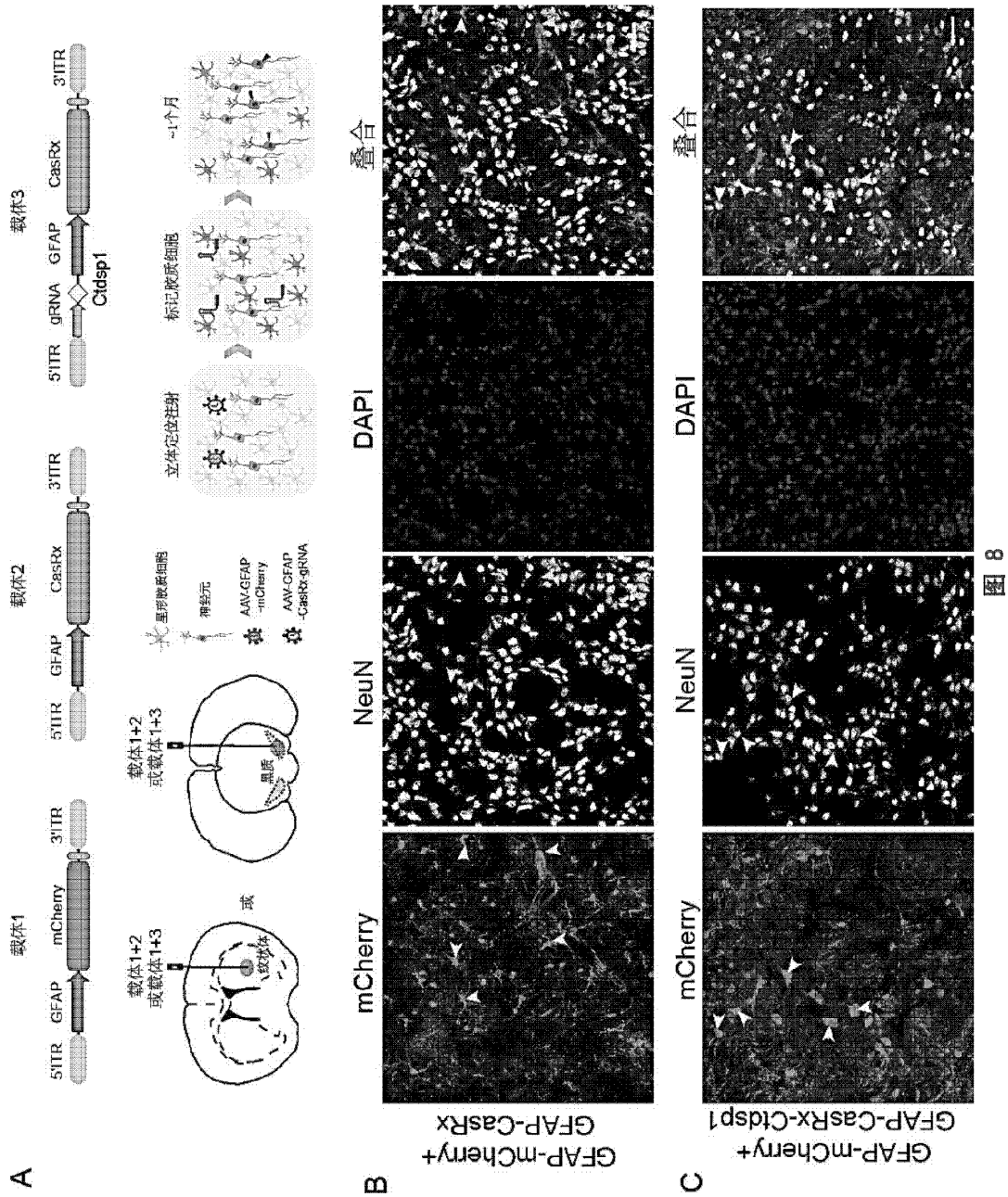

A
载体1
5'ITR
GFAP
mCherry
3'ITR
载体2
5'ITR
GFAP
CasRx
3'ITR
载体3
5'ITR
gRNA
GFAP
CasRx
3'ITR
Ctdsp1
载体1+2
或载体1+3
或
纹状体
载体1+2
或载体1+3
黑质
星形胶质细胞
神经元
AAV-GFAP
-mCherry
AAV-GFAP
-CasRx-gRNA
立体定位注射
标记胶质细胞
~1个月
B
GFAP-mCherry+
GFAP-CasRx
mCherry
NeuN
DAPI
叠合
C
GFAP-mCherry+
GFAP-CasRx-Ctdsp1
mCherry
NeuN
DAPI
叠合

图 8

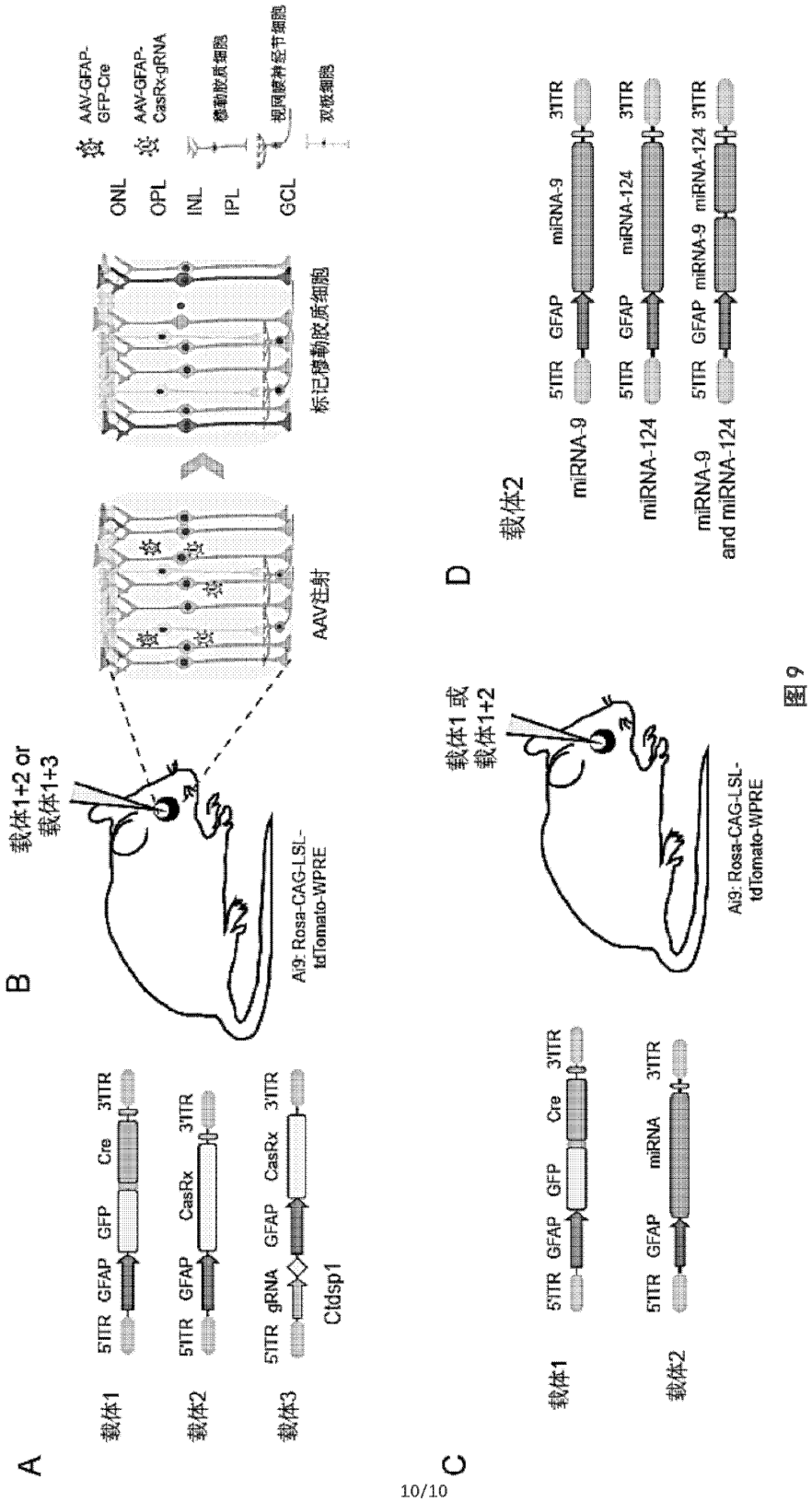

A
载体1
5ITR GFAP GFP Cre 3ITR
载体2
5ITR GFAP CasRx 3ITR
载体3
5ITR gRNA GFAP CasRx 3ITR
Ctdsp1
B
载体1+2 or
载体1+3
Ai9: Rosa-CAG-LSL-
tdTomato-WPRE
AAV注射
标记穆勒胶质细胞
ONL
OPL
INL
IPL
GCL
AAV-GFAP-
GFP-Cre
AAV-GFAP-
CasRx-gRNA
穆勒胶质细胞
视网膜神经节细胞
双极细胞
C
载体1
5ITR GFAP GFP Cre 3ITR
载体2
5ITR GFAP miRNA 3ITR
D
载体1或
载体1+2
Ai9: Rosa-CAG-LSL-
tdTomato-WPRE
载体2
5ITR GFAP miRNA-9 3ITR
miRNA-9
5ITR GFAP miRNA-124 3ITR
miRNA-124
5ITR GFAP miRNA-9 miRNA-124 3ITR
miRNA-9
and miRNA-124

图 9